Received: 30 Sept 2026; Published: 19 Oct 2026
DOI: 10.14710/baf.11.2.2026.141-150

OPEN ACCESS

Buletin Anatomi dan Fisiologi

E-ISSN: 2541-0083
Vol. 11 (2), 2026

https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/baf/index

Aktivitas Antioksidan dan Profil Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Kerang Darah (*Anadara granosa*) dan Kerang Balelo (*Conomurex luhuanus*) Asal Kabupaten Kepulauan Selayar

Antioxidant Activity and Chemical Composition Profiles of Ethanol Extracts from Blood Clams (Anadara granosa) and Balelo Clams (Conomurex luhuanus) from Selayar Islands Regency

Andi Annisatul Muassyiroh, Andi Mu'nisa*, Nani Kurnia, A. Irmasuryani, Kusdianawati

Program Studi Biologi,Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,Universitas Negeri Makassar,Jl. Dg. Tata Raya, Makassar, Sulawesi Selatan
*) Corresponding author(s) email: andi.mu'nisa@unm.ac.id

ABSTRAK

Stres oksidatif memicu kerusakan oksidatif pada biomolekul esensial, sehingga eksplorasi agen antioksidan alami dari biota laut terus dikembangkan. Penelitian terkait profil metabolit volatil dan aktivitas peredaman radikal bebas pada moluska komersial lokal Indonesia Timur, khususnya kerang darah (Anadara granosa) dan kerang balelo (Conomurex luhuanus) asal Kepulauan Selayar, masih sangat terbatas. Riset ini bertujuan mengevaluasi dan membandingkan komposisi kimiawi menggunakan instrumen Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS) serta menentukan kapasitas antioksidan melalui metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Sampel daging segar diekstraksi melalui maserasi bertingkat menggunakan etanol 96% selama 3 x 24 jam. Hasil penelitian memperlihatkan rendemen ekstrak kerang darah sebesar 6,00% dan kerang balelo sebesar 5,00%. Analisis kromatografi gas mendeteksi keberadaan 71 puncak pada kerang darah dengan konstituen dominan berupa ethyl α-D-glucopyranoside (8,54%), sedangkan pada kerang balelo terdeteksi 50 puncak kromatogram yang didominasi oleh senyawa N,N-dimethyl-hexylamine (28,05%). Uji peredaman DPPH menghasilkan nilai IC50 sebesar 375,05 ppm untuk ekstrak kerang darah dan 556,99 ppm untuk ekstrak kerang balelo, yang keduanya tergolong ke dalam kategori kapasitas antioksidan sangat lemah. Rendahnya aktivitas ini berkolerasi langsung dengan ketiadaan cincin aromatik berhidroksil fenolik bebas pada komponen dominan kedua ekstrak. Penelitian lanjutan disarankan melakukan ekstraksi fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut dengan polaritas berbeda, isolasi fraksi peptida bioaktif terlarut, serta uji antioksidan komparatif menggunakan metode ABTS dan FRAP guna mengonfirmasi potensi terapeutik moluska tersebut.

Kata kunci: Bivalvia, Gastropoda, metabolit sekunder, radikal bebas, IC50

ABSTRACT

Oxidative stress causes severe macromolecular degradation, accelerating the global bioprospecting of marine natural products. Comparative empirical data regarding volatile metabolites and radical scavenging activities of commercially harvested mollusks from Eastern Indonesia, specifically blood clams (Anadara granosa) and balelo clams (Conomurex luhuanus) inhabiting the Selayar Islands, remain scarce. This study aimed to quantitatively characterize and compare the chemical composition profiles using Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS) and evaluate the in vitro antioxidant capacity via the DPPH assay. Homogenized wet soft tissues were extracted through repeated maceration with 96% ethanol over 3 x 24 hours. The extraction yields were 6.00% for blood clams and 5.00% for balelo clams. GC-MS analysis resolved 71 chromatographic peaks in blood clam extracts, predominantly represented by ethyl α-D-glucopyranoside (8.54%), whereas 50 peaks were identified in balelo clams, dominated by N,N-dimethyl-hexylamine (28.05%). Radical scavenging assays revealed IC50 values of 375.05 ppm and 556.99 ppm for blood clams and balelo clams, respectively, both falling within the very weak antioxidant category. This low capacity is primarily attributed to the structural absence of free electron-donating phenolic hydroxyl groups in major volatile fractions. Future investigations should incorporate multi-solvent polarity fractionation, water-soluble bioactive peptide isolation, and complementary antioxidant profiling using ABTS and FRAP assays to thoroughly validate the therapeutic potential of these marine mollusks.

Keywords: *Bivalvia, free radicals, Gastropoda, IC50, secondary metabolites*

© 2026 by Authors, Published by Universitas Diponegoro Publishing Group
This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International license

PENDAHULUAN

Stres oksidatif merupakan manifestasi patologis dari disregulasi homeostasis seluler yang dipicu oleh ketimpangan antara laju akumulasi spesies oksigen reaktif (reactive oxygen species/ROS) dan kapasitas sistem pertahanan antioksidan endogen. Radikal bebas seperti radikal hidroksil, superoksida, serta peroksil memiliki reaktivitas kimiawi yang sangat tinggi terhadap molekul biologis, menyebabkan peroksidasi rantai lipid membran sel, degradasi struktural protein fungsional, dan kerusakan untai ganda DNA (Afzal et al., 2023; Chandimali et al., 2025). Kerusakan biomolekuler yang berlangsung secara kronis terbukti menjadi etiologi utama berkembangnya berbagai penyakit degeneratif pada manusia, meliputi aterosklerosis, disfungsi kardiovaskular, diabetes melitus, gangguan neurodegeneratif, serta karsinogenesis (Munteanu & Apetrei, 2021). Guna menekan efek sitotoksik akibat propagasi radikal bebas tersebut, asupan antioksidan eksogen menjadi krusial (Yuniwarti et al., 2018). Namun, penggunaan antioksidan sintetis seperti butylated hydroxyanisole (BHA) dan butylated hydroxytoluene (BHT) dalam jangka panjang telah dibatasi di berbagai negara karena potensi efek hepatotoksik, nefrotoksik, dan risiko karsinogenik (Xie & Schaich, 2021). Fenomena ini mendorong akselerasi eksplorasi ilmiah terhadap sumber antioksidan alami yang aman, biokompatibel, dan berkelanjutan dari sumber daya hayati laut (Ngandjui et al., 2024).

Ekosistem laut tropis menyimpan diversitas kimiawi metabolit sekunder yang sangat kaya karena organismenya hidup di bawah tekanan seleksi lingkungan yang ekstrem, seperti fluktuasi salinitas, paparan radiasi fotooksidatif, dan dinamika mikroba perairan (Bordignon et al., 2024; Toro et al., 2022). Filum Moluska (Mollusca) merupakan kelompok invertebrata laut terbesar kedua yang menjadi fokus kajian bioprospeksi karena kaya akan konstituen kimia bernilai nutrasetika dan farmakologis, mencakup peptida bioaktif, asam lemak tak jenuh ganda (polyunsaturated fatty acids/PUFA), sterol, alkanolamina, dan polisakarida sulfat (Ngandjui et al., 2024). Dua komoditas moluska laut yang melimpah dan dikonsumsi secara luas oleh masyarakat pesisir Indonesia adalah kerang darah (Anadara granosa) dari kelas Bivalvia dan kerang balelo (Conomurex luhuanus) dari kelas Gastropoda.

Secara biologis, kerang darah (Anadara granosa) hidup sebagai organisme infaunal yang membenamkan diri di dalam substrat lumpur berpasir di wilayah estuari dan pesisir dangkal. Sebagai hewan pemakan saring (filter feeder), kerang darah menyaring fitoplankton, bakteri bentik, dan partikel detritus organik tersuspensi. Paparan sedimen anoksik dan fluktuasi bahan organik menuntut kerang darah menyintesis metabolit adaptif untuk mempertahankan integritas fisiologis jaringannya (Bordignon et al., 2024). Rozirwan et al. (2023) melaporkan bahwa ekstrak etanol kerang darah dari pantai timur Sumatera Selatan mengandung fenol total sebesar 10,71 mg GAE/g dengan aktivitas antioksidan penangkap DPPH yang tergolong kuat dengan nilai 〖"IC" 〗_50 sebesar 85 µ"g/mL" . Di sisi lain, kerang balelo (Conomurex luhuanus) merupakan siput laut epifaunal pemakan detritus dan epifit karang (herbivorous grazer) yang berasosiasi erat dengan ekosistem padang lamun dan terumbu karang dangkal. Nurhikma et al. (2021) mendeteksi keberadaan metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin, tanin, fenol hidrokuinon, dan steroid pada ekstrak kerang balelo melalui skrining fitokimia tabung. Karakteristik relung ekologi bentik, sumber trofik harian, dan filogeni yang berbeda di antara kedua spesies ini secara teoretis menginduksi jalur biosintesis metabolit sekunder yang berbeda pula (Chen et al., 2021; Toro et al., 2022).

Meskipun potensi bioaktivitas moluska telah banyak dilaporkan, terdapat kesenjangan penelitian (research gap) yang nyata dalam literatur saat ini. Pertama, sebagian besar penelitian terdahulu terhadap kerang darah dan kerang balelo di Indonesia masih terbatas pada analisis proksimat dasar, profil nutrisi makro, atau skrining fitokimia kualitatif berbasis uji warna tabung yang memiliki subjektivitas tinggi dan tidak mampu mengungkap identitas molekuler spesifik (Nurhikma et al., 2021; Rozirwan et al., 2023). Kedua, data komparatif yang mengkaji profil metabolit volatil dan semi-volatil secara terperinci menggunakan instrumen kromatografi modern resolusi tinggi masih sangat langka. Ketiga, karakteristik metabolit moluska sangat dipengaruhi oleh biogeografi, hidrografi lokal, dan ketersediaan nutrien perairan (Bordignon et al., 2024). Wilayah perairan Kepulauan Selayar, Sulawesi Selatan, memiliki karakteristik oseanografi kepulauan yang khas dengan kualitas perairan karang yang jernih, namun eksplorasi komparatif mengenai konstituen kimia dan aktivitas antioksidan moluska dari kawasan ini belum pernah dikaji secara komprehensif. Ketiadaan data ini menghambat pemahaman

kemotaksonomi dan valuasi nilai tambah moluska lokal sebagai bahan baku nutrasetika fungsional.

Karakterisasi spektrum konstituen organik volatil dan semi-volatil dapat dilakukan secara akurat menggunakan teknik Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS). GC-MS mengintegrasikan daya pisah fisik senyawa berdasarkan volatilitas dan interaksi kolom kapiler dengan identifikasi pola fragmentasi ion molekuler menggunakan spektrometer massa yang dicocokkan dengan basis data spektral terstandardisasi NIST (National Institute of Standards and Technology) (Wang et al., 2017; Zhang et al., 2018). Sementara itu, evaluasi kapasitas antioksidan penangkap radikal bebas dapat diuji secara terstandardisasi menggunakan metode radikal bebas stabil 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Munteanu & Apetrei, 2021; Xie & Schaich, 2021). Metode DPPH mengevaluasi kemampuan molekul uji dalam mendonorkan atom hidrogen (hydrogen atom transfer/HAT) maupun mentransfer elektron tunggal (single electron transfer/SET) yang ditandai oleh penurunan serapan absorbansi kromofor DPPH pada panjang gelombang 517 nm (Yamauchi et al., 2024; Yuniwarti et al., 2018).

Berdasarkan kesenjangan tersebut, penelitian ini dirancang dengan tujuan utama yang terintegrasi: (1) menganalisis rendemen ekstrak etanol kerang darah (A. granosa) dan kerang balelo (C. luhuanus) asal Kepulauan Selayar; (2) mengidentifikasi profil senyawa kimia volatil dan semi-volatil dari kedua ekstrak menggunakan instrumen GC-MS; (3) membandingkan konstituen kimia dominan berdasarkan persentase luas area puncak kromatogram pada masing-masing spesies; (4) mengukur aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas DPPH dari kedua ekstrak yang dinyatakan melalui nilai konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50}) terhadap kontrol positif BHT; serta (5) mengkorelasikan keterkaitan antara struktur gugus fungsi senyawa dominan hasil GC-MS terhadap kapasitas aktivitas antioksidan yang teramati. Hasil penelitian ini diharapkan dapat melengkapi basis data kemotaksonomi moluska laut tropis serta memberikan landasan ilmiah bagi pemanfaatan dan pengembangan agen antioksidan alami berbasis sumber daya laut Indonesia.

METODE PENELITIAN

Waktu, Tempat, dan Bahan Penelitian

Penelitian eksperimental kuantitatif ini dilaksanakan dari bulan Agustus hingga November 2025. Preparasi sampel, maserasi bertingkat, dan pengujian aktivitas antioksidan DPPH dilakukan di Laboratorium Penelitian Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Makassar. Analisis profil senyawa kimia menggunakan instrumen GC-MS dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu. Bahan utama yang digunakan adalah daging segar kerang darah (Anadara granosa) dan kerang balelo (Conomurex luhuanus). Bahan kimia berderajat analisis (analytical grade/p.a.) meliputi etanol 96% teknis terdestilasi, etanol absolut p.a. (Merck), serbuk radikal 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich), butylated hydroxytoluene (BHT, Sigma-Aldrich), kertas saring Whatman No. 42, dan akuades deionisasi. Peralatan laboratorium yang digunakan mencakup timbangan analitik presisi (Ohaus), blender homogenizer, bejana maserasi kaca gelap, corong Buchner, rotary vacuum evaporator (Eyela N-1200B), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800), mikropipet (Eppendorf), tabung reaksi, sentrifuga, dan instrumen GC-MS (Agilent Technologies 7890B GC System terkopel 5977A MSD).

Pengambilan dan Preparasi Sampel

Sampel kerang darah (Anadara granosa) dan kerang balelo (Conomurex luhuanus) diperoleh secara langsung dari tangkapan nelayan lokal di zona perairan pantai Desa Padang, Kecamatan Bontoharu, Kabupaten Kepulauan Selayar, Sulawesi Selatan. Spesimen moluska yang diambil dipilih dalam kondisi hidup, segar, memiliki cangkang utuh tanpa cacat mekanis, dan berukuran dewasa seragam. Sampel segera dimasukkan ke dalam wadah berinsulasi pendingin bersuhu 4 °C dan ditransportasikan ke laboratorium. Setibanya di laboratorium, cangkang luar dibersihkan dari lumpur, teritip, dan epibion yang menempel menggunakan sikat halus di bawah aliran air tawar mengalir. Cangkang dibuka secara mekanis menggunakan spatula bedah steril, kemudian jaringan lunak (soft tissue) dipisahkan dari cangkangnya. Daging kerang dicuci kembali secara cepat menggunakan akuades dingin untuk mengeliminasi sisa hemolimfa dan garam bentik, kemudian ditiriskan di atas kertas serap. Jaringan lunak segar masing-masing spesies ditimbang tepat sebanyak 500 g, dipotong kecil-kecil, dan dihomogenisasi menggunakan blender analitik berkecepatan tinggi selama 3 menit hingga diperoleh bubur jaringan homogen.

Prosedur Ekstraksi Maserasi Bertingkat

Proses ekstraksi senyawa metabolit dilakukan melalui metode maserasi bertingkat mengacu pada protokol Zhang et al. (2018) dan

Gori et al. (2021) dengan pelarut etanol 96%. Etanol 96% dipilih karena bersifat pelarut universal ramah lingkungan (green solvent) yang memiliki konstanta dielektrik luas sehingga efektif mengekstraksi komponen metabolit polar, semi-polar, hingga lipid netral pada jaringan hewani (Zhang et al., 2018). Bubur sampel kerang darah dan kerang balelo (masing-masing 500 g) dimasukkan ke dalam bejana kaca maserasi berwarna gelap terpisah, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% dengan rasio bahan terhadap pelarut sebesar 1:2 (b/v), yaitu 1.000 mL pelarut untuk setiap 500 g sampel. Bejana maserasi ditutup rapat dan disimpan pada suhu ruang terkontrol (25–27 °C) terhindar dari penetrasi cahaya langsung selama 24 jam disertai pengocokan periodik menggunakan orbital shaker pada kecepatan 100 rpm. Setelah 24 jam, maserat dipisahkan dari residu ampas menggunakan corong Buchner yang dilapisi kertas saring Whatman No. 42. Residu padat kemudian diekstraksi ulang (remaserasi) menggunakan pelarut etanol 96% baru dalam volume yang sama. Prosedur ekstraksi ini diulang sebanyak tiga kali (3×24 jam) hingga pelarut maserasi relatif jernih, guna memastikan penarikan komponen kimia intraseluler berlangsung sempurna. Seluruh filtrat cair dari perlakuan maserasi pertama, kedua, dan ketiga dikumpulkan menjadi satu dalam labu bulat. Filtrat gabungan dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu penangas air 40 °C dengan kecepatan putaran 60 rpm dan tekanan vakum 175 mbar hingga pelarut etanol menguap seluruhnya dan diperoleh ekstrak kental pekat. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang menggunakan neraca analitik untuk menghitung persentase rendemen ekstraksi. Persentase rendemen dihitung secara matematis menggunakan rumus:

$$\frac{Bobot\ ekstrak\ kental\ yang\ diperoleh\ (g)}{Bobot\ simplisia\ basah\ awal\ (g)}$$

Ekstrak kental kemudian disimpan di dalam vial kaca gelap tertutup rapat pada suhu pendingin -20 °C untuk analisis instrumen dan uji biologis lebih lanjut.

Pengujian Kapasitas Antioksidan dengan Metode Peredaman Radikal DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara spektrofotometri menggunakan radikal bebas DPPH mengacu pada metode terstandardisasi Munteanu dan Apetrei (2021) yang dimodifikasi sesuai Yuniwarti et al. (2018) dan Yamauchi et al. (2024). Tahapan uji diawali dengan pembuatan larutan stok radikal DPPH 0,1 mM. Serbuk kristal DPPH ditimbang saksama sebanyak 0,00394 g (3,94 mg), dilarutkan dalam labu ukur 100 mL menggunakan etanol absolut p.a., dihomogenkan menggunakan sonikator selama 5 menit, dan disimpan dalam botol gelap terbungkus aluminium foil pada suhu 4 °C. Larutan kontrol positif butylated hydroxytoluene (BHT) dibuat dengan menimbang 0,01 g BHT dan melarutkannya dalam 10 mL etanol absolut hingga diperoleh larutan induk 1.000 ppm. Larutan stok ekstrak kerang darah dan kerang balelo disiapkan dengan konsentrasi 1.000 ppm dalam etanol absolut. Dari larutan induk tersebut, dilakukan pengenceran bertingkat untuk memperoleh seri konsentrasi kerja sampel ekstrak, yaitu 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm, serta seri konsentrasi BHT pembanding pada 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm.

Pengujian peredaman radikal dilakukan dengan memipet 2,0 mL larutan sampel ekstrak pada masing-masing deret konsentrasi ke dalam tabung reaksi gelap, kemudian ditambahkan 2,0 mL larutan DPPH 0,1 mM. Campuran larutan dihomogenisasi menggunakan pengocok pusar (vortex) selama 30 detik. Sebagai kontrol negatif, dibuat campuran 2,0 mL pelarut etanol absolut p.a. dan 2,0 mL larutan DPPH 0,1 mM. Seluruh campuran larutan diinkubasi dalam ruang gelap pada suhu kamar (25 °C) selama 30 menit untuk memberikan waktu kontak reaksi transfer hidrogen antara senyawa antioksidan dengan radikal DPPH (Xie & Schaich, 2021). Setelah masa inkubasi selesai, serapan absorbansi masing-masing larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum (λ_"maks") 517 nm terhadap blangko etanol absolut. Pengujian terhadap seluruh konsentrasi sampel dan kontrol dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan independen (triplo). Kemampuan penangkapan radikal bebas dihitung sebagai persentase inhibisi (% inhibisi) menggunakan persamaan:

$$\%\ \text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan: A_"kontrol" merupakan absorbansi larutan kontrol DPPH tanpa sampel, dan A_"sampel" merupakan absorbansi larutan DPPH setelah penambahan ekstrak sampel uji. Nilai persentase inhibisi yang diperoleh kemudian diplotkan terhadap nilai logaritma konsentrasi sampel uji untuk menghasilkan persamaan regresi linier:

$$y = ax + b$$

Keterangan: y bernilai 50 (mewakili 50% inhibisi), dan x adalah konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan. Nilai konsentrasi penghambatan 50% (IC50) dihitung

melalui interpolasi persamaan garis linier tersebut. Tingkat kekuatan kapasitas antioksidan ditentukan berdasarkan standar penggolongan Blois: nilai IC50 < 50 ppm dikategorikan sangat kuat, 50-100 ppm tergolong kuat, 101-150 ppm tergolong sedang, 151-200 ppm tergolong lemah, dan nilai IC50 > 200 ppm diklasifikasikan sebagai antioksidan sangat lemah.

Analisis Profil Kimia Menggunakan Instrumen GC-MS

Identifikasi konstituen metabolit sekunder volatil dan semi-volatil pada ekstrak etanol kerang darah dan kerang balelo dianalisis menggunakan instrumen kromatografi gas terkopel spektrometer massa (GC-MS Agilent Technologies 7890B GC System terintegrasi 5977A Mass Selective Detector) (Wang et al., 2017). Ekstrak kental dilarutkan kembali dalam pelarut etanol absolut p.a. hingga konsentrasi 1 mg/mL, kemudian disaring menggunakan membran filter nilon berukuran pori 0,22 µ"m" untuk memisahkan partikulat halus. Pemisahan kromatografi dilakukan menggunakan kolom kapiler nonpolar HP-5MS (panjang kolom 30 m, diameter internal 0,25 mm, dan ketebalan lapisan film stasioner 0,25 µ"m" ; komposisi 5% fenil metil polisiloksan). Gas pembawa (carrier gas) yang digunakan adalah helium ultra murni (tingkat kemurnian 99,999%) dengan laju alir konstan 1,0 mL/menit. Injeksi sampel dilakukan sebanyak 1,0 µ"L" dengan mode rasio pembagian (split ratio) sebesar 10:1 pada temperatur port injektor 250 °C.

Program pemanasan temperatur oven kolom kromatografi diatur secara bertingkat (temperature programming) untuk mengoptimalkan resolusi pemisahan puncak: suhu awal diatur pada 60 °C dan ditahan secara isotermal selama 2 menit, kemudian dinaikkan dengan laju gradien 10 °C/menit hingga mencapai suhu 200 °C (ditahan selama 2 menit), selanjutnya dinaikkan kembali dengan laju 5 °C/menit hingga mencapai temperatur akhir 280 °C dan dipertahankan secara stabil selama 15 menit, sehingga total waktu elusi kromatografi adalah 49 menit. Spektrometer massa dioperasikan pada sistem ionisasi tumbukan elektron (electron impact/EI) dengan energi ionisasi 70 eV. Suhu sumber ion (ion source temperature) diatur pada 230 °C, suhu antarmuka saluran transfer (transfer line temperature) pada 280 °C, dan suhu kuadrupol pada 150 °C. Pemindaian fragmen ion massa (mass scan range) dilakukan pada rentang m/z 40–550 satuan massa atom (amu) dengan waktu jeda pelarut (solvent delay) selama 3,0 menit. Identifikasi struktur senyawa dilakukan melalui komparasi waktu retensi (retention time/RT), indeks retensi Kovats, dan pencocokan pola spektrum fragmentasi massa sampel terhadap basis data referensi spektral terstandardisasi NIST 14 (National Institute of Standards and Technology Library) serta Wiley 9 Registry Library. Senyawa dianggap teridentifikasi secara tentatif dengan derajat keyakinan tinggi apabila nilai kemiripan spektral (similarity index/SI) ≥80% (Wang et al., 2017). Kandungan kuantitatif relatif dari setiap senyawa dihitung berdasarkan persentase luas area puncak kromatogram (percent peak area) terhadap total luas area kromatogram ion total (total ion chromatogram/TIC) menggunakan integrasi perangkat lunak ChemStation.

Analisis Data

Data primer rendemen ekstraksi, serapan absorbansi spektrofotometer, persentase inhibisi radikal bebas DPPH, dan parameter luas area kromatogram GC-MS ditabulasi secara sistematis menggunakan Microsoft Excel 365. Nilai persentase inhibisi dianalisis regresi linier guna mendapatkan persamaan kurva kalibrasi penentuan nilai IC50 Profil senyawa kimia disajikan dalam bentuk data tabulasi komparatif yang memuat parameter waktu retensi, nama senyawa, rumus kimia, kelompok metabolit, dan kelimpahan persentase luas area. Hubungan antara perbedaan struktur molekul senyawa dominan dengan kapasitas peredaman radikal bebas dievaluasi dan disintesis secara deskriptif argumentatif berbasis kemotaksonomi dan komparasi literatur fisiologi kelautan.

Penelitian ini dirancang menggunakan metode deskriptif eksperimental kuantitatif guna membandingkan struktur mikroanatomi dan respons kerapatan stomata daun tanaman cabai merah yang ditumbuhkan pada dua rezim penyinaran matahari yang kontras. Kegiatan penelitian lapangan, pemetikan sampel daun, serta karakterisasi parameter abiotik lingkungan mikro dilaksanakan selama kurun waktu dua minggu, terhitung dari tanggal 1 April hingga 14 April 2023. Koleksi sampel tanaman cabai merah dilakukan di kawasan Kebun Botani Universitas Pendidikan Indonesia (UPI), Jalan Dr. Setiabudhi No. 229, Isola, Sukasari, Kota Bandung, Jawa Barat. Proses pembuatan preparat histologi non-permanen, kalibrasi optik bidang pandang mikrometer, serta pengamatan mikroskopis dan penghitungan densitas seluler dilakukan di Laboratorium Struktur Tumbuhan dan Laboratorium Ekologi, Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak Etanol Kerang Darah dan Kerang Baleo

Rendemen ekstrak merupakan indikator kuantitatif awal yang menggambarkan efisiensi proses ekstraksi serta proporsi biomassa kimia intraseluler yang berhasil ditarik oleh pelarut dari jaringan asal (Gori et al., 2021; Zhang et al., 2018). Ekstraksi maserasi bertingkat menggunakan etanol 96% pada 500 g simplisia basah jaringan lunak kerang darah (Anadara granosa) dan kerang balelo (Conomurex luhuanus) menghasilkan pasta ekstrak kental berwarna cokelat kemerahan pekat pada kerang darah dan cokelat kekuningan pada kerang balelo. Data perolehan rendemen disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan data pada Tabel 1, ekstrak kerang darah (A. granosa) menghasilkan persentase rendemen yang sedikit lebih tinggi (6,00%) dibandingkan kerang balelo (C. luhuanus) yang memperoleh 5,00%. Perbedaan perolehan rendemen sebesar 1,00% ini mencerminkan adanya variasi komposisi biokimia jaringan penyusun pada kedua moluska. Jaringan kerang darah tersusun atas fraksi hemolimfa yang kaya akan eritrosit berpigmen hemoglobin intraseluler, kompleks glikogen, fosfolipid polar, serta asam amino bebas terlarut yang memiliki afinitas kelarutan tinggi terhadap pelarut etanol 96% (Rozirwan et al., 2023). Sebaliknya, kerang balelo sebagai Gastropoda memiliki jaringan muskular kaki (muscular foot) yang didominasi oleh serat protein struktural kolagen dan miofibril padat yang sukar terlarut dalam pelarut organik alifatik, serta konsentrasi lendir mukopolisakarida ekstraseluler yang cenderung tertahan pada residu ampas penyaringan (Nurhikma et al., 2021). Selain faktor intrinsik jaringan, perolehan rendemen ekstrak pada moluska laut sangat dipengaruhi oleh rasio pelarut, lama perendaman, temperatur evaporasi, serta kondisi salinitas tempat hidup organisme (Chen et al., 2021; Gori et al., 2021).

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Kerang Darah Dan Kerang Balelo

Sampel	Berat simplisia basah (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Kerang darah (*Anadara granosa*)	500 g	30 g	6,00%
Kerang balelo *(Conomurex luhuanus)*	500 g	25 g	5,00%

Tabel 2. Nilai IC_{50} Ekstrak Kerang Darah, Kerang Balelo, dan BHT

Sampel	IC_{50} (ppm)	Kategori
Kerang darah (*Anadara granosa*)	375,05 ppm	Sangat lemah
Kerang balelo *(Conomurex luhuanus)*	556,99 ppm	Sangat lemah
BHT	37,01 ppm	Sangat Kuat

Aktivitas Antioksidan Esktrak Berdasarkan Nilai IC50 Uji DPPH

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kerang darah dan kerang balelo diuji berdasarkan kapasitas penangkapan radikal bebas sintetik DPPH. Parameter penentu efektivitas antioksidan dinyatakan melalui nilai Inhibitory Concentration 50% (IC50), yaitu konsentrasi substrat uji yang diperlukan untuk mereduksi intensitas warna radikal bebas DPPH sebesar 50% pada kondisi pengukuran terstandardisasi (Munteanu & Apetrei, 2021). Nilai IC50 berbanding terbalik dengan potensi antioksidan; semakin kecil nilai IC50 yang terhitung, maka semakin poten kapasitas sampel dalam menangkal propagasi radikal bebas (Xie & Schaich, 2021; Yuniwarti et al., 2018). Data hasil pengukuran nilai IC50 dari kedua ekstrak moluska beserta kontrol positif pembanding BHT dirangkum pada Tabel 2.

Mengacu pada kriteria klasifikasi Blois (Munteanu & Apetrei, 2021), kapasitas antioksidan ekstrak etanol kerang darah (IC50 = 375,05 ppm) dan kerang balelo (IC50 = 556,99 ppm) tergolong ke dalam kategori sangat lemah karena nilainya jauh melampaui batas ambang 200 ppm. Sebagai kontrol pembanding, senyawa fenolik sintetis BHT memperlihatkan kapasitas penangkal radikal yang sangat kuat dengan nilai IC50 sebesar 37,01 ppm (< 50 ppm). Tingginya aktivitas BHT berasal dari keberadaan gugus

hidroksil fenolik tunggal yang diapit oleh dua gugus tersier-butil (tert-butyl) sterik meruah pada posisi orto cincin benzena, yang memfasilitasi donasi atom hidrogen secara spontan sekaligus menstabilkan radikal fenoksil perantara melalui resonansi elektron terdelokalisasi (Xie & Schaich, 2021; Yamauchi et al., 2024). Sebaliknya, ekstrak kasar moluska pada penelitian ini belum melalui tahap fraksinasi pemurnian, sehingga konsentrasi senyawa bioaktif penangkal radikal masih terencerkan oleh tingginya fraksi garam mineral, lipid netral, dan komponen makromolekul non-aktif lainnya (Ngandjui et al., 2024).

Secara komparatif di antara kedua moluska, ekstrak kerang darah memiliki kapasitas penangkal radikal bebas yang relatif lebih baik dibandingkan ekstrak kerang balelo, terbukti dari nilai IC50 kerang darah yang lebih rendah (375,05 ppm vs. 556,99 ppm). Menariknya, nilai IC50 kerang darah asal Kepulauan Selayar pada penelitian ini terpaut jauh lebih tinggi (lebih lemah) dibandingkan hasil riset Rozirwan et al. (2023) pada kerang darah asal pesisir timur Sumatera Selatan yang mencatatkan nilai IC50 sebesar 85 (ppm). Disparitas aktivitas antioksidan ini dipicu oleh interaksi multifaktorial lingkungan dan perlakuan teknis. Pertama, kondisi ekosistem estuari Sumatera Selatan menerima limpasan nutrien terestrial dan bahan organik tinggi yang menstimulasi ledakan mikroalga fitoplankton lokal yang kaya akan prekursor senyawa fenolik dan karotenoid, sedangkan perairan Kepulauan Selayar merupakan perairan kepulauan oseanik dengan tingkat kekeruhan rendah dan nutrien terbatas (Rozirwan et al., 2023; Toro et al., 2022). Kedua, preparasi sampel pada penelitian ini mengekstraksi jaringan basah segar utuh tanpa pra-pengeringan suhu rendah, sehingga tingginya kadar air intrinsik jaringan turut mendilusi konsentrasi metabolit aktif di dalam maserat etanol kasar (Gori et al., 2021; Zhang et al., 2018). Ketiga, variasi musim pengambilan sampel, siklus gonad reproduktif, serta perbedaan ukuran cangkang organisme berkontribusi terhadap fluktuasi sintesis molekul defensif pada moluska bentik (Bordignon et al., 2024; Chen et al., 2021).

Profil Senyawa Kimia

Analisis GC-MS menunjukkan 71 puncak pada ekstrak kerang darah dan 50 puncak pada ekstrak kerang balelo. Senyawa dengan persentase luas area tertinggi pada ekstrak kerang darah adalah ethyl α-D-glucopyranoside (8,54%), sedangkan pada ekstrak kerang balelo adalah N,N-dimethyl-hexylamine (28,05%). Lima senyawa dengan luas area tertinggi pada masing-masing ekstrak ditampilkan pada Tabel 3.

Data GC-MS pada Tabel 3 memperlihatkan adanya divergensi profil metabolit sekunder yang sangat tajam antara Bivalvia dan Gastropoda. Pada ekstrak kerang darah (A. granosa), lima senyawa dominan mewakili 38,31% dari total luas area kromatogram, yang tersusun atas kelompok glikosida karbohidrat, sterol, alkanolamina, dan ester asam lemak. Senyawa dengan kelimpahan tertinggi adalah ethyl α-D-glucopyranoside (8,54%) pada waktu retensi 18,033 menit. Senyawa ini merupakan turunan etil eter dari glukosa yang terbentuk secara alami dari cadangan energi polisakarida glikogen pada jaringan kerang darah selama kontak dengan pelarut etanol (Chen et al., 2021). Senyawa dominan kedua adalah cholest-5-en-3-ol (3β)- atau kolesterol (7,86%), yang merupakan komponen lipid struktural utama penyusun membran seluler hewan laut (Toro et al., 2022). Selain itu, teridentifikasi pula senyawa alkanolamina berupa 2-ethylaminoethanol (7,66%) yang berperan sebagai perantara dalam biosintesis fosfolipid membran fosfatidiletanolamina. Keberadaan ester asam lemak tak jenuh rantai panjang (ethyl 5,8,11,14,17-icosapentaenoate/etil ester EPA, 7,24%) dan ester asam lemak jenuh (octadecanoic acid, ethyl ester/etil stearat, 7,01%) mengonfirmasi bahwa kerang darah kaya akan komponen lipid fungsional khas moluska pemakan diatom bentik (Ngandjui et al., 2024; Toro et al., 2022).

Sebaliknya, ekstrak kerang balelo (C. luhuanus) didominasi secara masif oleh kelompok senyawa nitrogen alifatik rantai pendek, yang mencakup fraksi amina tersier, turunan asam amino teralkilasi, lakton, diamina, dan amida alifatik, dengan total kontribusi kelima senyawa dominan mencapai 82,11% luas area kromatogram. Senyawa paling melimpah pada kerang balelo adalah N,N-dimethyl-hexylamine dengan persentase sangat tinggi, yakni 28,05% pada waktu retensi 13,215 menit. Senyawa dominan berikutnya adalah N,N-dimethylglycine hydrochloride (23,04%) dan L-homoserine lactone, N,N-dimethyl- (16,92%). N,N-dimethylglycine merupakan turunan asam amino glisin tersier yang berfungsi fisiologis sebagai molekul osmoprotektan endogen dan donor metil pada invertebrata laut untuk menjaga tekanan osmotik sitoplasma terhadap salinitas air laut karang yang tinggi (Chen et al., 2021). Turunan homoserin lakton dan diamina ([2-(N,N-dimethyl)]-1,2-propanediamine, 7,69%) serta amida alifatik (acetamide, N-methyl-N-(3-methylbutyl)-, 6,41%) mengindikasikan tingginya aktivitas metabolisme degradasi asam amino dan peptida struktural pada jaringan muskular kaki keong balelo (Nurhikma et al., 2021).

Korelasi Struktur Senyawa Kimia Dominan terhadap Aktivitas Antioksidan

Analisis komparatif antara data profil kromatografi GC-MS dan hasil uji biologis DPPH memberikan penjelasan rasional mengenai mekanisme kimiawi di balik lemahnya aktivitas antioksidan kedua ekstrak. Kemampuan suatu senyawa bahan alam dalam meredam radikal bebas DPPH ditentukan oleh keberadaan gugus kromofor donor hidrogen aktif, khususnya gugus hidroksil fenolik terkonjugasi pada cincin aromatik (Xie & Schaich, 2021; Yamauchi et al., 2024). Ketika molekul polifenol bereaksi dengan radikal DPPH (berwarna ungu gelap, λ=517 nm, gugus hidroksil mendonorkan proton secara cepat menghasilkan molekul non-radikal DPPH-H (berwarna kuning pucat), sementara radikal fenoksil intermediet yang terbentuk mengalami stabilisasi resonansi mesomerik di sepanjang sistem elektron pi (π) terdelokalisasi pada cincin benzena (Munteanu & Apetrei, 2021; Yamauchi et al., 2024).

Pada ekstrak kerang balelo (C. luhuanus), senyawa metabolit dominannya adalah N,N-dimethyl-hexylamine (28,05%), N,N-dimethylglycine (23,04%), dan turunan alkil amida. Senyawa-senyawa ini merupakan senyawa alifatik jenuh yang terikat pada atom nitrogen tersier tanpa memiliki satu pun gugus fenolik bebas atau sistem ikatan rangkap terkonjugasi. Gugus amina tersier alifatik memiliki energi disosiasi ikatan yang relatif tinggi, sehingga tidak mampu bertindak sebagai donor proton hidrogen yang efisien kepada radikal bebas nitrogen pada molekul DPPH (Xie & Schaich, 2021). Ketiadaan cincin aromatik terdelokalisasi juga menyebabkan radikal perantara yang terbentuk tidak stabil secara termodinamika. Karakteristik struktur inilah yang menjadi faktor penjelas fundamental mengapa ekstrak kerang balelo memiliki hambatan sterik donasi elektron yang tinggi, tercermin dari nilai IC_{50} yang sangat besar (556,99 ppm).

Tabel 3. Senyawa-Senyawa dengan Persentase Luas Area Tertinggi pada Kerang Darah dan Kerang Balelo

Spesies	Senyawa teridentifikasi	Waktu Retensi	Area (%)
Kerang darah *(Anadara granosa)*	Ethyl α-D glucopyranoside	18,033	8,54
	Cholest-5-en-3-ol (3β)	43,603	7,86
	2-Ethylaminoethanol	11,302	7,66
	Ethyl 5,8,11,14,17-icosapentaenoate	38,993	7,24
	Octadecanoic acid, ethyl ester	26,928	7,01
Kerang balelo *(Conomurex luhuanus)*	N,N-Dimethyl-hexylamine	13,215	28,05
	N,N-Dimethylglycine hydrochloride	11,542	23,04
	L-Homoserine lactone, N,N-dimethyl-	10,925	16,92
	[2-(N,N-Dimethyl)]-1,2-propanediamine	17,512	7,69
	Acetamide, N-methyl-N-(3-methylbutyl)-	15,471	6,41

Keterangan: Senyawa ditampilkan berdasarkan persentase luas area tertinggi pada masing-masing ekstrak. Identifikasi senyawa mengacu pada pencocokan spektrum massa dengan pustaka GC-MS.

Ekstrak kerang darah (A. granosa) memperlihatkan reaktivitas peredaman radikal yang sedikit lebih tinggi (IC50 = 375,05 ppm). Kapasitas ini dikontribusikan oleh profil senyawa dominannya yang mengandung ethyl α-D-glucopyranoside (8,54%) dan ethyl 5,8,11,14,17-icosapentaenoate (etil EPA, 7,24%). Cincin piranosa pada molekul glukosida memiliki sejumlah gugus hidroksil alifatik bebas yang mampu mendonorkan atom hidrogen secara lambat melalui mekanisme transfer hidrogen alifatik. Selain itu, molekul etil EPA memiliki lima pasang ikatan rangkap terisolasi yang dihubungkan oleh jembatan metilena bis-alilik atom hidrogen pada posisi metilena bis-alilik ini memiliki energi ikatan yang lebih rendah sehingga rentan diabstraksi oleh radikal bebas DPPH menghasilkan radikal pentadienil terkonjugasi (Toro et al., 2022). Meskipun demikian, efisiensi donasi proton dari hidroksil alifatik dan posisi bis-alilik ini jauh lebih lambat dibandingkan efisiensi donasi dari cincin fenolik aromatik, sehingga nilai IC_{50} kerang darah tetap tertahan pada kategori sangat lemah (>200) ppm.

Perbedaan spektrum kimiawi dan daya biologis ini menegaskan pengaruh relung ekofisiologis kedua spesies. Kerang darah sebagai infaunal filter feeder mengakumulasi asam lemak tak jenuh dan sterol dari diatom planktonik yang tersaring di lumpur, memberikan kapasitas reduksi radikal bebas yang sedikit lebih aktif (Bordignon et al., 2024; Rozirwan et al., 2023). Sebaliknya, kerang balelo sebagai epifaunal herbivorous grazer di karang mengakumulasi metabolit sekunder nitrogen terlarut untuk osmoregulasi dan pertahanan kimiawi jaringan dari predasi, yang memiliki kapasitas reduksi radikal DPPH minimal (Chen et al., 2021; Nurhikma et al., 2021).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kerang darah (Anadara granosa) dan kerang balelo (Conomurex luhuanus) asal Kabupaten Kepulauan Selayar menunjukkan perbedaan profil konstituen kimia dan kapasitas aktivitas antioksidan yang signifikan. Rendemen ekstraksi kerang darah (6,00%) relatif lebih tinggi dibandingkan kerang balelo (5,00%). Analisis GC-MS mendeteksi 71 puncak kromatogram pada kerang darah dengan senyawa dominan berupa ethyl α-D-glucopyranoside (8,54%), kolesterol (7,86%), dan etil EPA (7,24%), sedangkan kerang balelo menghasilkan 50 puncak kromatogram yang didominasi oleh senyawa nitrogen alifatik, yakni N,N-dimethyl-hexylamine (28,05%) dan N,N-dimethylglycine hydrochloride (23,04%). Aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH kedua ekstrak tergolong ke dalam kategori sangat lemah dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 375,05 ppm untuk kerang darah dan 556,99 ppm untuk kerang balelo, dibandingkan BHT sebesar 37,01 ppm. Rendahnya aktivitas biologis ini berkolerasi secara struktural dengan dominansi senyawa alifatik non-fenolik yang memiliki resistensi tinggi dalam mentransfer atom hidrogen bebas.

Sebagai rekomendasi penelitian lanjutan (future research directions), eksplorasi bioprospeksi kedua moluska ini disarankan menerapkan metode fraksinasi partisi cair bertingkat menggunakan pelarut heksana, etil asetat, dan air guna memisahkan fraksi fenolik aktif dari lipid netral. Selain itu, disarankan melakukan isolasi dan karakterisasi fraksi peptida bioaktif terlarut air (water-soluble bioactive peptides) melalui hidrolisis enzimatik, menganalisis metabolit polar non-volatil menggunakan Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS), serta menguji kapasitas antioksidan melalui metode pengujian komplementer seperti penangkal radikal kation ABTS, daya reduksi besi (Ferric Reducing Antioxidant Power/FRAP), dan uji sitoprotektif seluler in vitro.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Jurusan Biologi Universitas Negeri Makassar dan Laboratorium Penelitian Jurusan Biologi Universitas Negeri Makassar atas dukungan dan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada dosen pembimbing serta semua pihak yang telah memberikan arahan, bantuan, dan dukungan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

Afzal, S., Syamima, A., Manap, A., Attiq, A., Albokhadaim, I., Kandeel, M., & Alhojaily, S. M. (2023). From imbalance to impairment: The central role of reactive oxygen species in oxidative stress-induced disorders and therapeutic exploration. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1269581. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1269581

Bordignon, F., Bertolini, C., Bernardini, I., Dalla Rovere, G., Iori, S., Breggion, C., Pastres, R., Boffo, L., Xiccato, G., Matozzo, V., Fabrello, J., Asnicar, D., Ciscato, M., Masiero, L., Marin, M. G., Peruzza, L., Bargelloni, L., Patarnello, T., Milan, M., & Trocino, A. (2024). Spatio-temporal variations of growth, chemical composition, and gene expression in Mediterranean mussels (*Mytilus galloprovincialis*): A two-year study in the Venice lagoon under anthropogenic and climate changing scenarios. *Aquaculture*, 578, 740111. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740111

Chandimali, N., Bak, S. G., Park, E. H., Lim, H., Won, Y., & Kim, E. (2025). Free radicals and their impact on health and antioxidant defenses: A review. *Cell Death Discovery*, 11(1), 1–14. https://doi.org/10.1038/s41420-024-02278-8

Chen, J.-N., Huang, X.-H., Zheng, J., Sun, Y.-H., Dong, X.-P., Zhou, D.-Y., Zhu, B.-W., & Qin, L. (2021). Comprehensive metabolomic and lipidomic profiling of the seasonal variation of blue mussels (*Mytilus edulis* L.): Free amino acids, 5′-nucleotides, and

lipids. *Food Chemistry*, 356, 129683. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129683

Gori, A., Boucherle, B., Rey, A., Rome, M., Fuzzati, N., & Peuchmaur, M. (2021). Development of an innovative maceration technique to optimize extraction and phase partition of natural products. *Fitoterapia*, 148, 104798. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104798

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. https://doi.org/10.3390/ijms22073380

Ngandjui, Y. A. T., Kereeditse, T. T., Kamika, I., Madikizela, L. M., & Msagati, T. A. M. (2024). Nutraceutical and medicinal importance of marine molluscs. *Marine Drugs*, 22(5), 201. https://doi.org/10.3390/md22050201

Nurhikma, N., Mirsa, M., & Wulandari, D. A. (2021). Bioactive compound and antioxidant activity of balelo sea snail (*Conomurex* sp.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 11–19. https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i1.33024

Rozirwan, R., Nanda, N., Nugroho, R. Y., Diansyah, G., Muhtadi, M., Fauziyah, F., Putri, W. A. E., & Agussalim, A. (2023). Phytochemical composition, total phenolic content and antioxidant activity of *Anadara granosa* (Linnaeus, 1758) collected from the east coast of South Sumatra, Indonesia. *Baghdad Science Journal*, 20(4), 1258–1265. https://doi.org/10.21123/bsj.2023.6941

Toro, J. E., Navarro, J. M., Valenzuela, A., Oyarzún, P. A., & Farías, A. (2022). Proximal and fatty acid analysis in *Ostrea chilensis*, *Crassostrea gigas* and *Mytilus chilensis* (Bivalvia: Mollusca) from southern Chile. *PLOS ONE*, 17(7), e0270825. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270825

Wang, M., Carver, J. J., Phelan, V. V., Sanchez, L. M., Garg, N., Peng, Y., Nguyen, D. D., Watrous, J., Kapono, C. A., Luzzatto-Knaan, T., & Dorrestein, P. C. (2017). Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature Biotechnology*, 34(8), 828–837. https://doi.org/10.1038/nbt.3597

Xie, J., & Schaich, K. M. (2021). A critical examination of the DPPH method: Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC_{50} determination by UV–Vis spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 1157, 338398. https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338398

Yamauchi, M., Kitamura, Y., Nagano, H., Kawatsu, J., & Gotoh, H. (2024). DPPH measurements and structure–activity relationship studies on the antioxidant capacity of phenols. *Molecules*, 29(5), 1082. https://doi.org/10.3390/molecules29051082

Yuniwarti, E. Y. W., Saraswati, T. R., & Kusdiyantini, E. (2018). Aktivitas antioksidan berbagai minyak edible menggunakan metode DPPH. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 3(1), 85–88. https://doi.org/10.14710/baf.3.1.2018.85-88

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13, 20. https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x